

**Mikroskopobjektiv zur Totalinternen-Reflexions-Mikroskopie und**  
**Mikroskop**

Die Erfindung betrifft ein Mikroskopobjektiv insbesondere zur Totalinternen-  
5 Reflexions-Mikroskopie.

Die Erfindung betrifft außerdem ein Mikroskop mit einem Mikroskopobjektiv.

Aus US 2002/0097489 A1 ist ein Mikroskop mit evaneszenter Beleuchtung  
einer Probe bekannt. Das Mikroskop beinhaltet eine Weißlichtquelle, deren  
Licht über eine Schlitzblende durch das Mikroskopobjektiv hindurch in den  
10 einer Probe tragenden Objektträger zur evaneszenten Beleuchtung  
eingekoppelt wird. Das Beleuchtungslicht pflanzt sich in dem Objektträger  
durch totalinterne Reflexion fort, wobei die Beleuchtung der Probe nur im  
Bereich des aus dem Objektträger herausragenden evaneszenten Feldes  
erfolgt. Mikroskope dieser Art sind unter dem Begriff TIRFM (Total Internal  
15 Reflection Fluorescent Microscope) bekannt.

Die z-Auflösung von TIRF-Mikroskopen ist aufgrund des nur ca. 100 nm in die  
Probe ragenden evaneszenten Feldes außerordentlich gut.

Aus DE 101 08 796 A1 ist ein hochaperturiges Objektiv, insbesondere für  
TIRF-Anwendungen bekannt. Das Objektiv besteht aus einer ersten Linse mit  
einer positiven Brechkraft, einer zweiten Linse mit negativer Brechkraft, wobei  
20

Hf

BEST AVAILABLE COPY

das Brennweitenverhältnis zwischen den beiden Linsen im Bereich von - 0,4 und - 0,1 liegt und die Gesamtbrechkraft größer Null ist. Ferner beinhaltet das Objektiv zwei positive Linsen, deren Verhältnisdurchmesser zur Brennweite größer 0,3 und kleiner 0,6 ist. Ferner beinhaltet das Objektiv eine Negativlinse und einer Sammellinse, wobei die Negativlinse der Frontgruppe zugewandt ist und das Brennweitenverhältnis der Negativlinse und der Sammellinse zwischen - 0,5 und - 2 liegt.

5 Aus DE 102 17 098 A1 ist eine Auflichtbeleuchtungsanordnung für die TIRF-Mikroskopie bekannt. Die Auflichtbeleuchtungsanordnung beinhaltet eine Beleuchtungsquelle, die im Betrieb ein polarisiertes Beleuchtungsstrahlenbündel abgibt, das unter einem Winkel zur optischen Achse propagiert und eine Umlenleinrichtung, die das Beleuchtungsstrahlenbündel umlenkt und parallel zur optischen Achse in das Objektiv einkoppelt. Es ist bei dieser Auflichtbeleuchtungsanordnung vorgesehen, dass das von der Beleuchtungsquelle abgegebene Beleuchtungsstrahlenbündel s- und p-Polarisationsrichtungen mit einer Phasendifferenz aufweist und die Umlenleinrichtung das Beleuchtungsstrahlenbündel  $x$ -mal reflektiert, wobei  $x = (n \times 180^\circ - d)/60^\circ$ .

10 Aus DE 101 43 481 A1 ist ein Mikroskop zur TIRM (Total Internal Reflection Microscopy) bekannt. Das Mikroskop weist ein Mikroskopgehäuse und ein Objektiv auf. Das von einer Beleuchtungseinrichtung ausgehende Beleuchtungslicht kann über einen in das Mikroskopgehäuse einschiebbaren Adapter eingekoppelt werden.

15 Aus US 2004/0001253 A1 ist ein Mikroskop mit einem optischen Beleuchtungssystem, das ein einfaches Umschalten zwischen evaneszenter Beleuchtung und Reflektionsbeleuchtung ermöglicht. Das Beleuchtungssystem beinhaltet eine Laserlichtquelle, deren Licht in eine optische Faser eingekoppelt wird. Ferner ist eine Auskoppeloptik vorgesehen, die das aus der Faser austretende Licht in einen hinteren Brennpunkt des Objektivs fokussiert. Die optische Faser ist in einer Ebene senkrecht zur optischen Achse des Mikroskopobjektivs verschiebbar.

20

25

30

Aus DE 102 29 935 A1 ist eine Einrichtung zur Einkopplung von Licht in einem Mikroskop bekannt. Dabei wird in der Leuchtfeldblendenebene durch eine als Schieber ausgeführte Lichtleitfaser-Einkopplung Laserlicht auf das Präparat gerichtet. Die Erfindung ist insbesondere für das TIRF-Verfahren geeignet.

In der Rastermikroskopie wird eine Probe mit einem Lichtstrahl beleuchtet, um das von der Probe emittierte Detektionslicht, als Reflexions- oder Fluoreszenzlicht, zu beobachten. Der Fokus eines Beleuchtungslightstrahlenbündels wird mit Hilfe einer steuerbaren Strahlablenkeinrichtung, im Allgemeinen durch Verkippen zweier Spiegel, in einer Probenebene bewegt, wobei die Ablenkachsen meist senkrecht aufeinander stehen, so dass ein Spiegel in x-, der andere in y-Richtung ablenkt. Die Verkippung der Spiegel wird beispielsweise mit Hilfe von Galvanometer-Stellelementen bewerkstelligt. Die Leistung des vom Objekt kommenden Detektionslichtes wird in Abhängigkeit von der Position des Abtaststrahles gemessen. Üblicherweise werden die Stellelemente mit Sensoren zur Ermittlung der aktuellen Spiegelstellung ausgerüstet. Speziell in der konfokalen Rastermikroskopie wird ein Objekt mit dem Fokus eines Lichtstrahls in drei Dimensionen abgetastet.

Ein konfokales Rastermikroskop umfasst im Allgemeinen eine Lichtquelle, eine Fokussieroptik, mit der das Licht der Quelle auf eine Lochblende – die sog. Anregungsblende – fokussiert wird, einen Strahlteiler, eine Strahlablenkeinrichtung zur Strahlsteuerung, eine Mikroskopoptik, eine Detektionsblende und die Detektoren zum Nachweis des Detektions- bzw. Fluoreszenzlichtes. Das Beleuchtungslight wird über einen Strahlteiler eingekoppelt. Das vom Objekt kommende Fluoreszenz- oder Reflexionslicht gelangt über die Strahlablenkeinrichtung zurück zum Strahlteiler, passiert diesen, um anschließend auf die Detektionsblende fokussiert zu werden, hinter der sich die Detektoren befinden. Diese Detektionsanordnung wird Descan-Anordnung genannt. Detektionslicht, das nicht direkt aus der Fokusregion stammt, nimmt einen anderen Lichtweg und passiert die Detektionsblende nicht, so dass man eine Punktinformation erhält, die durch

sequentielles Abtasten des Objekts mit dem Fokus des Beleuchtungslichtstrahlenbündels zu einem dreidimensionalen Bild führt. Meist wird ein dreidimensionales Bild durch schichtweise Bilddatennahme erzielt.

5 Es ist die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ein Mikroskopobjektiv, insbesondere zur Totalinternen-Reflexions-Mikroskopie anzugeben, dass die Möglichkeit einer zuverlässigen, effizienten und reproduzierbaren Probenbeleuchtung ihm bietet.

Diese Aufgabe wird durch ein Mikroskopobjektiv gelöst, das dadurch gekennzeichnet ist, dass das Mikroskopobjektiv zumindest eine Lichtleitfaser aufweist.

10 Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung ein Mikroskop anzugeben, dass eine effiziente, zuverlässige und reproduzierbare Möglichkeit zur Probenbeleuchtung, insbesondere zur Totalinternen-Reflexions-  
15 Mikroskopie bietet.

Die weitere Aufgabe wird durch ein Mikroskop gelöst, das dadurch gekennzeichnet ist, dass das Mikroskopobjektiv zumindest eine Lichtleitfaser aufweist.

20 In einer besonders bevorzugten Ausgestaltungsvariante des Mikroskopobjektivs ist durch die Lichtleitfaser Beleuchtungslicht unmittelbar in das Mikroskopobjektiv einkoppelbar. Vorzugsweise ist zumindest ein Teil der Lichtleitfaser – beispielsweise das Auskoppelende – mechanisch im Mikroskop und/oder am Mikroskopobjektiv befestigt. In einer besonders bevorzugten Variante ist das Auskoppelende in einer zur Fokalebene des  
25 Mikroskopobjektivs konjugierten Ebene (Fourierebene) angeordnet. Diese Variante ist insbesondere zur Erzeugung einer evaneszenten Probenbeleuchtung besonders geeignet. Für den Fall, dass das Mikroskopobjektiv mehrere zur Fokalebene konjugierte Ebenen (Fourierebenen) beinhaltet, ist es von besonderem Vorteil, das  
30 Auskoppelende in der der Frontlinse am nächsten gelegenen Fourierebene anzuordnen.

Insbesondere zur Erzeugung einer evaneszenten Probenbeleuchtung, bei der das Beleuchtungslight unter schrägem Winkel in einen Objektträger bzw. in ein Deckglas eingekoppelt werden muss, ist es besonders vorteilhaft, das

5 Auskoppelende mit einer lateralen Ablage zur optischen Achse des Mikroskopobjektivs anzuordnen.

In einer bevorzugten Ausgestaltungsform weist die Lichtleitfaser ein Einkoppelende auf, in das Beleuchtungslight einkoppelbar ist.

Vorzugsweise verläuft das aus dem Auskoppelende der Lichtleitfaser

10 austretende Beleuchtungslight durch den optischen Randbereich des Mikroskopobjektivs. Der übrige Bereich des Mikroskopobjektivs steht in dieser Variante für eine klassische Auflichtbeleuchtung (simultan oder sequentiell) zur Verfügung.

Vorzugsweise insbesondere zur Realisierung einer evaneszenten

15 Probenbeleuchtung tritt das Beleuchtungslight nach Durchlaufen des Mikroskopobjektivs unter einem einstellbaren Winkel zur optischen Achse aus dem Mikroskopobjektiv aus. Zur Einstellung des Winkels ist die Position des Auskoppelendes im Mikroskopobjektiv, insbesondere der laterale Abstand zur optischen Achse einstellbar.

20 In einer besonders bevorzugten Ausgestaltungsform des erfindungsgemäßen Mikroskops ist zumindest eine Beleuchtungslightquelle vorgesehen, die Beleuchtungslight emittiert, das in das Einkoppelende der Lichtleitfaser einkoppelbar ist. Vorzugsweise ist das Einkoppelende der Lichtleitfaser in einer zur Fokalebene des Mikroskopobjektivs korrespondierenden Ebene (z.B.

25 Zwischenbildebene) angeordnet.

In einer besonderen Ausgestaltungsvariante weist das Mikroskop eine Strahlablenkeinrichtung auf, mit der das Beleuchtungslight auf das Einkoppelende der Lichtleitfaser richtbar ist. Das Einkoppelende der Lichtleitfaser kann in dieser Ausgestaltungsvariante beispielsweise etwas

30 außerhalb des Zwischenbildfeldes liegen, so dass das Zwischenbild durch das Vorhandensein der Lichtleitfaser nicht gestört wird.

In einer ganz besonders bevorzugten Ausgestaltungsvariante ist das Mikroskop als Rastermikroskop, insbesondere als konfokales Rastermikroskop ausgeführt. In dieser Variante kann das Beleuchtungslicht, dass durch die Lichtleitfaser geführt wird, insbesondere zur TIRF-Beleuchtung 5 verwendet werden. Besonders vorteilhaft ist es dabei, dass alle Beleuchtungslichtwellenlängen, die auch für die klassische konfokale Rastermikroskopie verfügbar sind, für die TIRF-Anwendungen nutzbar sind. Auch eine evaneszente Probenbeleuchtung mit Beleuchtungslicht mehrerer Wellenlängen ist simultan ausführbar. Ein schnelles Umschalten zwischen 10 evaneszenter Probenbeleuchtung und einer Probenabrasterbeleuchtung ist nahezu beliebig schnell realisierbar, da die Strahlablenkeinrichtung eines Rastermikroskops sehr schnell arbeitet.

Bei einem konfokalen Rastermikroskop ist beispielsweise ein schnelles Umschalten von Photoaktivierung oder Photorelease und evaneszenter 15 Beleuchtung ermöglicht. Eine Detektion kann sowohl mit einer Kamera und/oder mit einem Funkdetektor (z.B. konfokal) erfolgen.

Erfindungsgemäß kann das Mikroskopobjektiv mit mehreren Lichtleitfasern oder Lichtleitfaserbündeln ausgerüstet sein, die Austrittsenden der mehreren Lichtleitfasern können im Mikroskopobjektiv an verschiedenen Stellen 20 positioniert sein und entsprechend der Experimentanforderungen verwendet werden.

In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben, wobei gleich wirkende Elemente mit denselben Bezugszeichen versehen sind. Dabei zeigen:

25 Fig. 1 Ein erfindungsgemäßes Rastermikroskop mit einem erfindungsgemäßen Mikroskopobjektiv und

Fig. 2 Ein weiteres Mikroskop mit einem erfindungsgemäßen Mikroskopobjektiv.

30 Fig. 1 zeigt ein erfindungsgemäßes Mikroskop, das als konfokales

Rastermikroskop ausgebildet ist, mit einem Mikroskopobjektiv 1, das eine Lichtleitfaser 3 aufweist. Die Lichtleitfaser 3 weist ein Auskoppelende 5 auf, das innerhalb des Mikroskopobjektivs 1 angeordnet ist und zwar in einer zur Fokalebene 7 des Mikroskopobjektivs 1 konjugierten Fourierebene 9. Das 5 Rastermikroskop weist eine Lichtquelle 11, die als Mehrlinienlaser 13 ausgebildet ist, auf. Das von der Beleuchtungslichtquelle 11 erzeugte Beleuchtungslicht 15 wird von einem Hauptstrahlteiler 17 zu einer Strahlablenkeinrichtung 19, die einen kardanisch aufgehängten Scanspiegel 21 beinhaltet, gelenkt. Zum Abrastern der Probe führt die 10 Strahlablenkeinrichtung 19 das Beleuchtungslicht durch die Scanoptik 23, die Tubusoptik 25 und durch den Strahlteiler 27 sowie durch das Mikroskopobjektiv 1 über bzw. durch die Probe 29, die auf einem Objekträger 31 angeordnet ist. Das von der Probe 29 ausgehende Detektionslicht 33 gelangt auf dem selben Lichtweg, nämlich durch das Mikroskopobjektiv 1, 15 durch den Strahlteiler 27, die Tubusoptik 25 sowie durch die Scanoptik 23 zurück zur Strahlablenkeinrichtung und zum Hauptstrahlteiler 17, passiert diesen und die nachfolgende Detektionslochblende 35 und gelangt schließlich zum Detektor 37, der als Multibanddetektor 35 ausgeführt ist. Zur Realisierung einer evaneszenten Probenbeleuchtung (TIRF-Beleuchtung) wird das 20 Beleuchtungslicht 15 von der Strahlablenkeinrichtung 19 durch die Scanoptik 23 hindurch auf das Einkoppelende 39 der Lichtleitfaser 3 gelenkt. Das Einkoppelende 39 befindet sich in einer zur Fokalebene 7 des Mikroskopobjektivs 1 korrespondierenden Ebene 41, nämlich einer Zwischenbildebene 43. Das in die Lichtleitfaser 3 eingekoppelte 25 Beleuchtungslicht 15 verläuft durch den Randbereich des Mikroskopobjektivs 1 und tritt unter einem schrägem Winkel zur optischen Achse des Mikroskopobjektivs 1 aus der Frontlinse 45 aus. Der Winkel ist durch Verändern des Abstandes des Austrittsendes 5 zur optischen Achse 47 des Mikroskopobjektivs 1 einstellbar. Das Mikroskopobjektiv 1 ist über ein 30 Immersionsmittel 49 optisch an das Deckglas 31 angekoppelt. Zur Erzeugung eines Abbildes der evaneszent beleuchteten Probe 29 steht eine Kamera 51 zur Verfügung, die das von der Probe ausgehende weitere Detektionslicht 53, das durch das Mikroskopobjektiv verläuft und vom Strahlteiler 27 zur Kamera

51 gelenkt wird, empfängt.

Fig. 2 zeigt ein anderes erfindungsgemäßes Mikroskop, das ebenfalls als konfokales Rastermikroskop ausgebildet ist. Bei dieser Ausführungsvariante ist der das weitere Detektionslicht 53 zur Kamera lenkende Strahlteiler 27 5 oberhalb der Zwischenbildebene 43 angeordnet.

Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

**Bezugszeichenliste:**

1	Mikroskopobjektiv
3	Lichtleitfaser
5	Auskoppelende
7	Fokalebene
9	Fourierebene
11	Lichtquelle
13	Mehrlinienlaser
10	15 Beleuchtungslicht
	17 Hauptstrahlteiler
	19 Strahlablenkeinrichtung
	21 Scanspiegel
	23 Scanoptik
15	25 Tubusoptik
	27 Strahlteiler
	29 Probe
	31 Objektträger
	33 Detektionslicht
20	35 Detektionslochblende
	37 Detektor
	39 Einkoppelende
	41 zur Fokalebene 7 korrespondierende Ebene
	43 Zwischenbildebene
25	45 Frontlinse

10

47        optische Achse  
49        Immersionsmittel  
51        Kamera  
53        Detektionslicht

5

Hf

Patentansprüche

1. Mikroskopobjektiv insbesondere zur Totalinternen-Reflexions-Mikroskopie, dadurch gekennzeichnet, dass das Mikroskopobjektiv zumindest eine Lichtleitfaser aufweist.
- 5 2. Mikroskopobjektiv nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass durch die Lichtleitfaser Beleuchtungslicht unmittelbar in das Mikroskopobjektiv einkoppelbar ist.
3. Mikroskopobjektiv nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein Teil der Lichtleitfaser mechanisch im 10 Mikroskopobjektiv und/oder am Mikroskopobjektiv befestigt ist.
4. Mikroskopobjektiv nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtleitfaser ein Auskoppelende aufweist, dass im Mikroskopobjektiv angeordnet ist.
5. Mikroskopobjektiv nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch 15 gekennzeichnet, dass das Auskoppelende in einer zur Fokalebene des Mikroskopobjektiv konjugierten Ebene (Fourierebene) angeordnet ist.
6. Mikroskopobjektiv nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Auskoppelende in einer zur Fokalebene des Mikroskopobjektiv konjugierten Ebene (Fourierebene) angeordnet ist, die der Frontlinse des 20 Mikroskopobjektiv am nächsten ist.
7. Mikroskopobjektiv nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Auskoppelende mit einer lateralen Ablage zur optischen Achse des Mikroskopobjektiv angeordnet ist.
8. Mikroskopobjektiv nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch 25 gekennzeichnet, dass die Lichtleitfaser ein Einkoppelende aufweist, in das Beleuchtungslicht einkoppelbar ist.
9. Mikroskopobjektiv nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass aus dem Auskoppelende der Lichtleitfaser austretendes

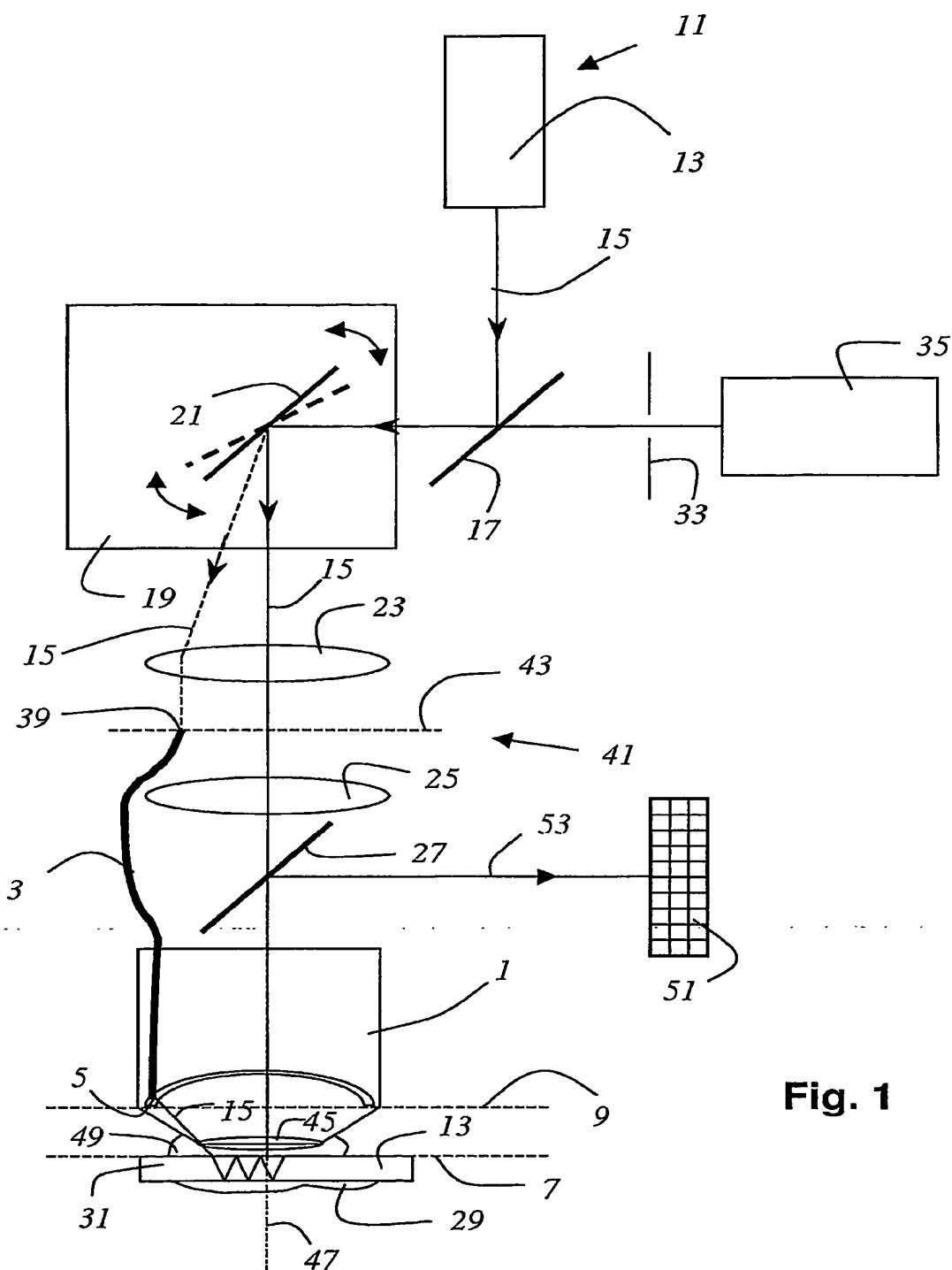
Beleuchtungslicht durch den optischen Randbereich des Mikroskopobjektiv verläuft.

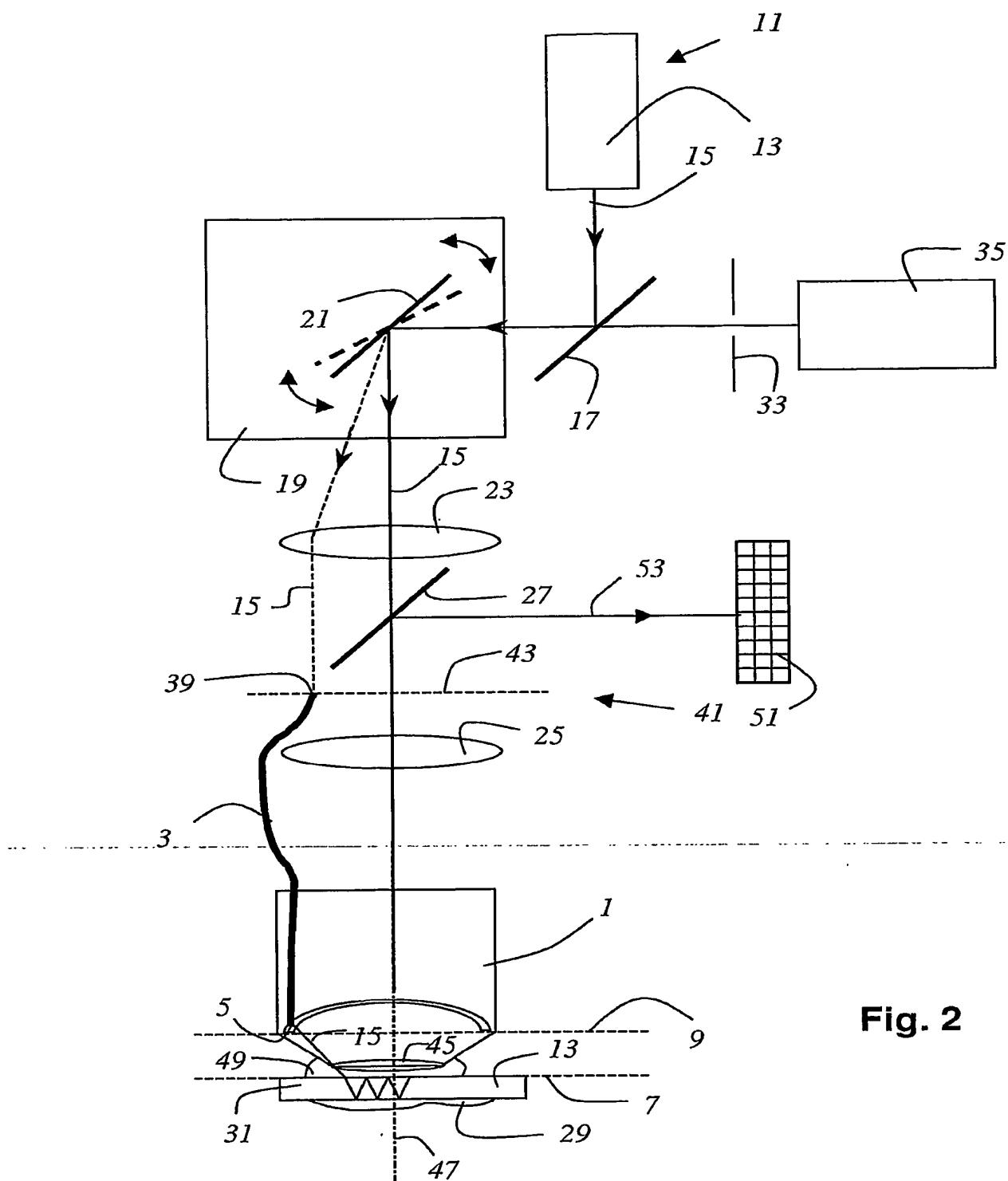
10. Mikroskopobjektiv nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Beleuchtungslicht nach Durchlaufen des Objektivs unter einem einstellbaren Winkel zur optischen Achse aus dem Objektiv austritt.
- 5 11. Mikroskopobjektiv nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Position des Auskoppelendes im Mikroskopobjektiv zur Einstellung des Winkels veränderbar ist.
- 10 12. Mikroskop mit einem Mikroskopobjektiv, dadurch gekennzeichnet, dass das Mikroskopobjektiv zumindest eine Lichtleitfaser aufweist.
13. Mikroskop nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass durch die Lichtleitfaser Beleuchtungslicht unmittelbar in das Mikroskopobjektiv einkoppelbar ist.
- 15 14. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 oder 13, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein Teil der Lichtleitfaser mechanisch im Mikroskopobjektiv und/oder am Mikroskopobjektiv befestigt ist.
15. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtleitfaser ein Auskoppelende aufweist, dass im 20 Mikroskopobjektiv angeordnet ist.
16. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass das Auskoppelende in einer zur Fokalebene des Mikroskopobjektiv konjugierten Ebene (Fourierebene) angeordnet ist.
17. Mikroskop nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass das 25 Auskoppelende in einer zur Fokalebene des Mikroskopobjektiv konjugierten Ebene (Fourierebene) angeordnet ist, die der Frontlinse des Mikroskopobjektiv am nächsten ist.
18. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass das Auskoppelende mit einer lateralen Ablage zur 30 optischen Achse des Mikroskopobjektiv angeordnet ist.

19. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtleitfaser ein Einkoppelende aufweist, in das Beleuchtungslight einkoppelbar ist.
20. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass aus dem Auskoppelende der Lichtleitfaser austretendes Beleuchtungslight durch den optischen Randbereich des Mikroskopobjektiv verläuft.
- 5 21. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass das Beleuchtungslight nach Durchlaufen des Objektivs unter einem einstellbaren Winkel zur optischen Achse aus dem Objektiv austritt.
- 10 22. Mikroskop nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Position des Auskoppelendes im Mikroskopobjektiv zur Einstellung des Winkels veränderbar ist.
- 15 23. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass das Mikroskop zumindest eine Beleuchtungslichtquelle aufweist, die Beleuchtungslight emittiert, das in das Einkoppelende der Lichtleitfaser einkoppelbar ist.
- 20 24. Mikroskop nach einem der Ansprüche 19 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass das Einkoppelende der Lichtleitfaser in einer zur Fokalebene des Mikroskopobjektivs korrespondierenden Ebene angeordnet ist.
- 25 25. Mikroskop nach einem der Ansprüche 19 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass das Einkoppelende der Lichtleitfaser in einer Zwischenbildebene des Mikroskops angeordnet ist.
26. Mikroskop nach einem der Ansprüche 23 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass das Mikroskop eine Strahlablenkeinrichtung aufweist mit der das Beleuchtungslight auf das Einkoppelende der Lichtleitfaser rückbar ist.
- 30 27. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 bis 26, dadurch

gekennzeichnet, dass das durch die Lichtleitfaser transportierte Beleuchtungslicht zur TIRF Beleuchtung dient.

28. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass das Licht der Beleuchtungslichtquelle zur TIRF Beleuchtung in die Lichtleitfaser einkoppelbar ist und zur direkten Probenbeleuchtung an der Lichtleitfaser vorbei führbar ist.
29. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass das Mikroskop ein Rastermikroskop umfasst.
30. Mikroskop nach einem der Ansprüche 12 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass das Mikroskop ein konfokales Rastermikroskop umfasst.

**Fig. 1**



A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 G02B21/02 G02B21/00 G02B21/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/023483 A (EUROP LAB MOLEKULARBIOLOG ; FLORIN ERNST-LUDWIG (DE); TISCHER CHRISTIA) 20 March 2003 (2003-03-20) figures 9,10,13,14 page 12, line 1 - page 17, line 2 page 20, line 25 - page 23, line 25 ----- US 4 291 938 A (WAGNER DIETMAR) 29 September 1981 (1981-09-29) figures column 3, line 53 - column 4, line 68 ----- -/-	1-25, 27-30
X		1-9, 12-20, 23-25, 28,29

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 November 2004

Date of mailing of the international search report

25/11/2004

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Windecker, R

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 199 27 724 A (OPTISCAN PTY LTD) 20 January 2000 (2000-01-20)  figures 5,6 column 10, line 32 – line 63 -----	1-4,7,8, 12-15, 19,23
X	US 5 887 009 A (GARRETT MARK H ET AL) 23 March 1999 (1999-03-23)  figure 1 column 7, line 31 – column 8, line 39 -----	1-4, 12-15, 23,24, 29,30
A	US 2003/058530 A1 (KAWANO YOSHIHIRO) 27 March 2003 (2003-03-27) figure 1 abstract paragraph '0029! – paragraph '0047! -----	1-30

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

/EP2004/052284

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 03023483	A	20-03-2003	DE CA WO EP	10143481 A1 2459363 A1 03023483 A2 1423746 A2		20-03-2003 20-03-2003 20-03-2003 02-06-2004
US 4291938	A	29-09-1981	DE CA DE EP IT JP JP	2852203 A1 1124116 A1 2963185 D1 0011709 A2 1164526 B 1105276 C 55076320 A 56051324 B		04-06-1980 25-05-1982 12-08-1982 11-06-1980 15-04-1987 16-07-1982 09-06-1980 04-12-1981
DE 19927724	A	20-01-2000	DE GB GB GB	19927724 A1 2353369 A ,B 2361314 A 2338568 A ,B		20-01-2000 21-02-2001 17-10-2001 22-12-1999
US 5887009	A	23-03-1999	WO	9853272 A1		26-11-1998
US 2003058530	A1	27-03-2003	JP	2003098439 A		03-04-2003

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

EP2004/052284

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 G02B21/02 G02B21/00 G02B21/06

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 G02B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 03/023483 A (EUROP LAB MOLEKULARBIOLOG ; FLORIN ERNST-LUDWIG (DE); TISCHER CHRISTIA) 20. März 2003 (2003-03-20) Abbildungen 9,10,13,14 Seite 12, Zeile 1 – Seite 17, Zeile 2 Seite 20, Zeile 25 – Seite 23, Zeile 25 -----	1-25, 27-30
X	US 4 291 938 A (WAGNER DIETMAR) 29. September 1981 (1981-09-29)  Abbildungen Spalte 3, Zeile 53 – Spalte 4, Zeile 68 ----- -/-	1-9, 12-20, 23-25, 28,29

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung,

eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem Internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kolidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts

19. November 2004

25/11/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Windecker, R

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>o</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 199 27 724 A (OPTISCAN PTY LTD) 20. Januar 2000 (2000-01-20)  Abbildungen 5,6 Spalte 10, Zeile 32 – Zeile 63 -----	1-4,7,8, 12-15, 19,23
X	US 5 887 009 A (GARRETT MARK H ET AL) 23. März 1999 (1999-03-23)  Abbildung 1 Spalte 7, Zeile 31 – Spalte 8, Zeile 39 -----	1-4, 12-15, 23,24, 29,30
A	US 2003/058530 A1 (KAWANO YOSHIHIRO) 27. März 2003 (2003-03-27) Abbildung 1 Zusammenfassung Absatz '0029! – Absatz '0047! -----	1-30

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 03023483	A	20-03-2003	DE CA WO EP	10143481 A1 2459363 A1 03023483 A2 1423746 A2		20-03-2003 20-03-2003 20-03-2003 02-06-2004
US 4291938	A	29-09-1981	DE CA DE EP IT JP JP JP	2852203 A1 1124116 A1 2963185 D1 0011709 A2 1164526 B 1105276 C 55076320 A 56051324 B		04-06-1980 25-05-1982 12-08-1982 11-06-1980 15-04-1987 16-07-1982 09-06-1980 04-12-1981
DE 19927724	A	20-01-2000	DE GB GB GB	19927724 A1 2353369 A ,B 2361314 A 2338568 A ,B		20-01-2000 21-02-2001 17-10-2001 22-12-1999
US 5887009	A	23-03-1999	WO	9853272 A1		26-11-1998
US 2003058530	A1	27-03-2003	JP	2003098439 A		03-04-2003

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**